

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Antica Pasarić**

**Omjer neutrofila i limfocita u bolesnika s  
reumatoidnim artritisom i sustavnim  
eritemskim lupusom**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2018.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za kliničku imunologiju, alergologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti medicinskog fakulteta u Zagrebu, KB Dubrava u suradnji sa Zavodom za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti medicinskog fakulteta u Zagrebu, KBC Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Jadranke Morović Vergles i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017./2018.

# Popis kratica

ACR – American College of Rheumatology

anti-CCP – anticitrulinska protutijela

anti-dsDNA – engl. anti-double-stranded DNA antibody (hrv. protutijelo protiv dvostruke uzvojnice DNA)

BMI – engl. body mass index (hrv. indeks tjelesne mase, ITM)

CDAI – Clinical Disease Activity Index

CMV – citomegalovirus

CRP – C-reaktivni protein

DAS – Disease Activity Score

DMARD – engl. disease-modifying antirheumatic drug (hrv. lijek koji mijenja tijek bolesti)

DNA – engl. deoxyribonucleic acid (hrv. deoksiribonukleinska kiselina, DNK)

EBV – Epstein-Barr virus

EULAR – European League Against Rheumatism

HAQ – Health Assessment Questionnaire

HLA – engl. human leukocyte antigen (hrv. antigen tkivne podudarnosti)

IL – interleukin

INF – interferon

MR – magnetska rezonanca

NLR – engl. neutrophil to lymphocyte ratio (hrv. omjer neutrofila i limfocita)

NSAID – engl. nonsteroidal anti-inflammatory drug (hrv. nesteroidni protuupalni lijek)

RA – reumatoidni artritis

RF – reumatoidni faktor

RNA – engl. ribonucleic acid (hrv. ribonukleinska kiselina, RNK)

SDAI – Simplified Disease Activity Score

SE – sedimentacija eritrocita

SLE – sustavni eritemski lupus

STEMI – engl. ST-elevation myocardial infarction (infarkt miokarda s elevacijom ST segmenta)

Th – engl. T helper (hrv. pomoćnički T limfociti)

TLR – toll-like receptor

TNF- $\alpha$  – engl. tumor necrosis factor alpha (hrv. faktor tumorske nekroze alfa)

UV – engl. ultraviolet (hrv. ultraljubičasto)

UZV – ultrazvuk

# Sadržaj

Popis kratica .....	
1. Sažetak.....	
2. Summary .....	
3. Uvod .....	1
3.1. Reumatoidni artritis .....	1
3.2. Sustavni eritemski lupus.....	6
3.3. Omjer neutrofila i limfocita.....	13
4. Hipoteza.....	15
5. Cilj rada .....	16
6. Ispitanici i metode .....	17
6.1. Ispitanici .....	17
6.2. Statistička analiza .....	17
7. Rezultati.....	18
8. Rasprava .....	25
9. Zaključci .....	28
10. Zahvale .....	29
11. Literatura .....	30
12. Životopis.....	34

# 1. Sažetak

## Omjer neutrofila i limfocita u bolesnika s reumatoidnim artritisa i sustavnim eritemskim lupusom, Antica Pasarić

**UVOD:** Omjer neutrofila i limfocita (NLR) prepoznat je unatrag nekoliko godina kao mogući marker sustavne upale u mnogim malignim, kardiovaskularnim, autoimunim i drugim bolestima. Prema dosadašnjim istraživanjima NLR pozitivno korelira s aktivnosti bolesti u reumatoidnom artritisu (RA), dok su nalazi o NLR u sustavnom eritemskom lupusu (SLE) kontradiktorni. Koliko nam je poznato, nema istraživanja o promjenama broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi bolesnika s RA i SLE i njihovom utjecaju na promjenu NLR.

**CILJ RADA:** Istražiti mehanizam promjene NLR u RA i SLE vezan uz aktivnost bolesti.

**ISPITANICI I METODE:** Ispitivanje je povijesno, a ispitanici su bolesnici s RA ( $n = 181$ ) i bolesnici sa SLE ( $n = 146$ ). Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine, u remisiji i s aktivnom bolesti, prema iznosu DAS28CRP (*granična vrijednost* = 2.6) za RA i iznosu SLEDAI (*granična vrijednost* = 3) za SLE. Bolesnici s RA podijeljeni su i u dvije skupine prema tome jesu li liječeni glukokortikoidima ili nisu.

**REZULTATI:** NLR i broj neutrofila u perifernoj krvi bolesnika s RA pozitivno koreliraju s iznosom DAS28CRP-a (NLR:  $r = 0.254$ ,  $p < 0.001$ ; broj neutrofila:  $r = 0.328$ ,  $p < 0.001$ ) i plazmatskom koncentracijom CRP-a (NLR:  $r = 0.716$ ,  $p < 0.001$ ; broj neutrofila:  $r = 0.417$ ,  $p < 0.001$ ), dok se broj limfocita beznačajno mijenja. NLR u bolesnika sa SLE pozitivno, a broj limfocita u perifernoj krvi negativno korelira s iznosom SLEDAI (NLR:  $r = 0.165$ ,  $p = 0.046$ ; broj limfocita:  $r = -0.173$ ,  $p = 0.037$ ) i plazmatskom koncentracijom CRP-a (NLR:  $r = 0.233$ ,  $p = 0.005$ ; broj limfocita:  $r = -0.287$ ,  $p = 0.001$ ), dok se broj neutrofila beznačajno mijenja.

**ZAKLJUČAK:** NLR je dobar pokazatelj sustavne upale u RA i SLE, ali dva različita mehanizma dovode do njegove promjene. S porastom upalne aktivnosti NLR u RA postaje veći zbog porasta broja neutrofila uz beznačajne promjene broja limfocita, dok NLR u SLE postaje veći zbog pada broja limfocita uz beznačajne promjene broja neutrofila u perifernoj krvi.

**KLJUČNE RIJEČI:** omjer neutrofila i limfocita (NLR), sustavna upala, reumatoidni artritis, sustavni eritemski lupus

## 2. Summary

### Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus, Antica Pasarić

**BACKGROUND:** Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) has in recent years emerged as a potential marker of systemic inflammation in numerous malignant, cardiovascular, autoimmune and other diseases. Previous studies have found positive correlation between NLR and disease activity in RA, while findings in SLE are contradictory. To our knowledge there is no study of the neutrophil and lymphocyte count changes in peripheral blood of patients with RA and SLE and their impact on the NLR.

**AIM:** Examine the mechanisms behind the NLR change in RA and SLE, associated with disease activity.

**SUBJECTS AND METHODS:** This is a historical study. Subjects are patients with RA ( $n = 181$ ) and patients with SLE ( $n = 146$ ). Patients were divided in two groups, group in remission and group with active disease, with cut-off value of  $DAS28CRP = 2.6$  for RA and  $SLEDAI = 3$  for SLE. Also, patients with RA were divided in two groups according to whether they were treated with glucocorticoids or not.

**RESULTS:** NLR and neutrophil count in peripheral blood of patients with RA are in positive correlation with DAS28CRP (NLR:  $r = 0.254$ ,  $p < 0.001$ ; neutrophil count:  $r = 0.328$ ,  $p < 0.001$ ) and plasma concentration of CRP (NLR:  $r = 0.716$ ,  $p < 0.001$ ; neutrophil count:  $r = 0.417$ ,  $p < 0.001$ ), while change in lymphocyte count is insignificant. In patients with SLE, NLR is in positive, and lymphocyte count in peripheral blood in negative correlation with SLEDAI (NLR:  $r = 0.165$ ,  $p = 0.046$ ; lymphocyte count:  $r = -0.173$ ,  $p = 0.037$ ) and plasma concentration of CRP (NLR:  $r = 0.233$ ,  $p = 0.005$ ; lymphocyte count:  $r = -0.287$ ,  $p = 0.001$ ), while change in neutrophil count is insignificant.

**CONCLUSION:** NLR is a good marker of systemic inflammation in RA and SLE, but two different mechanisms are responsible for the change in NLR. In response to increased disease activity, in RA NLR increases due to elevated neutrophil count in peripheral blood with insignificant change in lymphocyte count, while in SLE NLR increases due to elevated lymphocyte count with insignificant change in neutrophil count.

**KEY WORDS:** neutrophil to lymphocyte ratio, systemic inflammation, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus

## 3. Uvod

### 3.1. Reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis (RA) je kronična upalna autoimuna bolest. Upala dominantno zahvaća zglobove, ali i druge organske sustave, tako da je riječ o sustavnoj bolesti s posljedicama za čitav organizam. Dovodi do strukturnog oštećenja zglobova, funkcionalnog ograničenja i znatnog invaliditeta koji smanjuje kvalitetu života, a zbog sustavnog djelovanja upale i komorbiditeta do skraćenog životnog vijeka u odnosu na opću populaciju (1). Važno je bolest što prije prepoznati i rano početi adekvatno liječiti kako bi se izbjegle ili barem umanjile negativne posljedice bolesti.

RA jedna je od najčešćih autoimunih bolesti. Prevalencija bolesti je 0.5-1%, češće zahvaća žene, najčešće u srednjim godinama, iako se može javiti u bilo kojoj dobi(1,2). Češće se javlja u južnim nego u sjevernim krajevima, te u ruralnim u odnosu na urbana područja (3).

Bolest je multifaktorijalna, tj. u nastanku bolesti važni su genetski i okolišni čimbenici. Procjenjuje se da nasljeđe sudjeluje s 40-65% u nastanku seropozitivnog RA, a s 20% u seronegativnog RA (4). U prilog tome govori veća učestalost bolesti među jednojajčanim nego dvojajčanim blizancima, činjenica da je rizik za bolest 3-5 puta veći u osoba s pozitivnom obiteljskom anamnezom i već dugo poznata poveznica s antigenima tkivne podudarnosti (HLA DR4, DR1, DR14, osobito s HLA DR1B) (5,6). Među okolišnim čimbenicima kao glavni rizični čimbenik koji je i najbolje proučen ističe se pušenje (7). Pušenje doprinosi patološkoj citrulinaciji proteina do koje dolazi u RA (8,9). RA se često povezuje i s periodontitisom, osobito uzročnikom *Porphyromonas gingivalis*, iako ta veza nije sa sigurnošću potvrđena (10). U tih je bolesnika također nađena povećana citrulinacija proteina. I drugi uzročnici zaraznih bolesti (npr. EBV, CMV, rubela virus, parvo B19, mikoplazme, *P. mirabilis*, *E. Coli*) se povezuju s RA (8,11,12). Mehanizam kojim bi oni mogli sudjelovati u nastanku bolesti je molekularna mimikrija s posljedičnom indukcijom autoimunog odgovora. Istražuje se i uloga mikrobiote (za koju se zna da ima važnu obrambenu ulogu, u barijeri između organizma i vanjskog svijeta), pa su zabilježene promjene fiziološke crijevne flore u bolesnika s RA, kao i promjene flore nakon započetog liječenja (13,14).

Tijek reumatoidnog artritisa možemo podijeliti u tri faze: pretkliničku, tranzicijsku i kliničku. U pretkliničkoj fazi dolazi do postupnog gubitka imunotolerancije i stvaranja



preduvjeta za razvoj bolesti. Ova faza može dugo trajati, a dokaz je prisutnost karakterističnih protutijela u krvotoku bolesnika više godina prije pojave prvih simptoma bolesti (15). Tranzicijska faza u kojoj dolazi do konačnog sloma imunotolerancije i pokretanja upalnog procesa relativno kratko traje. Kao okidač tog procesa navodi se trauma, infekcija ili stres (16). Rezultat je prijelaz u kliničku fazu u kojoj se javljaju simptomi bolesti.

Glavna autoimuna protutijela u RA su anticitrulinska protutijela (anti-CCP) i reumatoidni faktor (RF). Anti-CCP protutijela su visokospecifična za RA, dok RF nalazimo i u drugim bolestima, primjerice sarkoidozi, kroničnim infekcijama i drugim autoimunim bolestima (15). Anti-CCP protutijela usmjerena su protiv vlastitih pretjerano citruliranih proteina poput vimentina, fibronektina, fibrogena,  $\alpha$ -enolaze, kolagena tipa II i histona (2). RF je imunoglobulin M, usmjeren protiv Fc fragmenta IgG i sudjeluje u stvaranju imunokompleksa. Ova protutijela nisu prisutna u svih bolesnika s RA te s obzirom na nalaz ovih protutijela dijelimo RA na seropozitivni i seronegativni oblik. Seropozitivan RA je prediktivan za teži tijek bolesti (15,17). U bolesnika s RA poremećena je regulacija T i B limfocita, a u središtu patogenetskog procesa nalaze se Th stanice. Smatra se da glavnu ulogu u patogenezi RA imaju Th1 stanice, ali zadnjih godina u fokus dolaze i Th17 i Treg limfociti koji se kao i Th1 razvijaju iz naivnih CD4<sup>+</sup> limfocita. U perifernoj krvi bolesnika s RA povišena je razina Th17 limfocita i njihovog glavnog citokina IL-17, koji potiče proizvodnju drugih proupalnih citokina podržavajući time upalu (18,19). Uloga Treg je u supresiji upale. Međutim prevaga proupalnih nad protuupalnim citokinima u RA smanjuje funkciju Treg (19). Središnji proupalni citokin u RA je TNF- $\alpha$ , a potom IL-6, IL-1, IL-23 i IL-17 (20,21). Aktivirani T i B limfociti zajedno s proupalnim citokinima pokreću stanice urođene imunosti, makrofage i neutrofile, koji se novače u zglobove i luče proteolitičke enzime koji razgrađuju izvanstanični matriks dovodeći do strukturnog oštećenja hrskavice i podležee kosti, rezultirajući bolovima i narušenjem funkcije zgloba (11). U proces su uključeni i osteoklasti, također aktivirani proupalnim citokinima (11,20). Umnožava se sinovijska membrana, dolazi do efuzije tekućine tj. otekline zgloba. Dolazi i do proliferacije fibroblasta.

Klinički se reumatoidni artritis karakteristično očituje jutarnjom ukočenošću, bolom i simetričnim oteklinama malih zglobova šaka i stopala. Upalom su dominantno zahvaćeni metakarpofalangealni i proksimalni interfalangealni te metatarzofalangealni zglobovi. Zahvaćenost distalnih interfalangealnih zglobova nije karakteristična za RA i javlja se eventualno kod dugotrajne bolesti. Nerijetko su prisutni i nespecifični simptomi, poput umora, opće slabosti i subfebriliteta, češće prethode zahvaćenosti zglobova (1). S napredovanjem

bolesti zahvaćeni mogu biti i veći zglobovi. U laboratorijskim nalazima povišena je plazmatska koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP-a), ubrzana sedimentacija eritrocita (SE) i u seropozitivnih bolesnika povišen titar karakterističnih protutijela (anti-CCP i RF). Klasifikacijski kriteriji EULAR-a (European League Against Rheumatism) i ACR-a (American College of Rheumatology) iz 2010. godine (tablica 1) koriste se i kao dijagnostički (22). Odnose se na zahvaćenost zglobova, serološki status (prisutnost anti-CCP i/ili RF), trajanje simptoma i reaktante upalne faze. Potrebno je 6 bodova za postavljanje dijagnoze.

Tablica 1. Klasifikacijski kriteriji ACR-a/EULAR-a za reumatoidni artritis iz 2010. (22)

<b>Zahvaćenost zglobova</b>	<b>0-5 bodova</b>
1 veliki zglob	0
2-10 velikih zglobova	1
1-3 mala zglobova	2
4-10 malih zglobova	3
> 10 zglobova (najmanje 1 mali zgloba)	5
<b>Serologija</b>	<b>0-3 bodova</b>
negativan reumatoidni faktor i negativna anticitrulinska protutijela	0
niski titar reumatoidnog faktora ili niski titar anticitrulinskih protutijela	2
visok titar reumatoidnog faktora ili visok titar anticitrulinskih protutijela	3
<b>Trajanje simptoma</b>	<b>0-1 bodova</b>
< 6 tjedana	0
≥ 6 tjedana	1
<b>Reaktanti akutne faze</b>	<b>0-1 bodova</b>
normalan CRP ili sedimentacija eritrocita	0
visok CRP ili sedimentacija eritrocita	1

Čimbenici koji prognoziraju težu bolest su ženski spol, visoki titar anti-CCP protutijela, visoki titar RF i visoke vrijednosti sedimentacije eritrocita te duljina trajanja simptoma prije započinjanja liječenja (23). Progresija bolesti brža je u prvoj u odnosu na drugu ili treću godinu bolesti, a aktivnost bolesti i odgovor na liječenje u prva tri mjeseca određuje ishod nakon godinu dana i značajan je za dugoročnu prognozu bolesti (1,15). Ključno je što ranije postaviti dijagnozu i započeti adekvatno liječenje u ranoj fazi RA. Prema EULAR-ovim preporukama bolesnik bi trebao najkasnije 6 tjedana od početka simptoma biti pregledan kod reumatologa, a unutar 3 mjeseca započeti liječenje lijekovima koji mijenjaju tijek bolesti (engl. disease-modifying antirheumatic drugs, DMARDs) (1). Cilj liječenja je postizanje remisije ili barem niske aktivnosti bolesti. Za objektivno utvrđivanje aktivnosti bolesti služe indeksi Disease Activity Score (DAS), Simplified Disease Activity Score (SDAI) i Clinical

Disease Activity Index (CDAI). U RH najčešće primjenjujemo DAS28, koji uključuje bolnost i otečenost 28 zglobova i u kombinaciji s CRP-om daje DAS28CRP indeks, odnosno u kombinaciji sa SE DAS28SE. S obzirom na DAS28CRP aktivnost bolesti se ocjenjuje kao visoka (DAS28CRP > 5.1), umjerena (DAS28CRP 3.2-5.1), niska (DAS28CRP 2.6-3.2) i u remisiji (DAS28CRP < 2.6). Funkcijsko oštećenje procjenjuje se upitnikom – Health Assessment Questionnaire (HAQ). Za redovito praćenje bolesnika uz anamnezu i klinički pregled, određujemo u laboratorijskim nalazima vrijednosti upalnih parametara i titar specifičnih protutijela, DAS28CRP i HAQ indekse i slikovne metode. Najčešće korištena slikovna metoda je rengenogram (obično šake) koji se redovno radi jedanput godišnje. On nam govori o strukturnom oštećenju zgloba, ali mu je mana što bolest ne može detektirati dok strukturnih oštećenja još nema, a upala je prisutna (24). U toj fazi ranih promjena od pomoći je ultrazvuk (UZV) koji detektira zadebljanje sinovijalne membrane i postojanje sinovijalnog izljeva kao pokazatelje aktivne upale, diskretnija oštećenja hrskavice te može mjeriti njezinu debljinu (25,26). U prepoznavanju ranih promjena može se primijeniti i magnetska rezonanca (MR), naročito za vizualizaciju medularne kosti i obavezna je pretraga kod sumnje na zahvaćenost densa aksisa i ligamenata kraniocervikalnog prijelaza zbog lošijeg prikaza toga područja klasičnom radiološkom obradom (25). Često se rabi i denzitometrija kojom se mjeri gustoća kostiju koja je u bolesnika s RA nerijetko snižena zbog negativnog djelovanja kronične sustavne upale, primjene glukokortikoida i zbog funkcionalne ograničenosti smanjenog kretanja bolesnika.

Liječenje bolesnika s RA treba započeti što ranije, dok postoji „prozor mogućnosti“ (engl. window of opportunity), kad je i najveća vjerojatnost da će bolest dobro odgovoriti na primijenjeno liječenje. Bolesnike treba često i redovito naručivati na kontrolne preglede (svaka 3 mjeseca) i na svakom pregledu evaluirati učinak liječenja koje je po potrebi nužno prilagoditi kako bi se ostvario željeni cilj (tzv. strategija liječenja prema zadanom cilju, T2T, engl. treat to target) (27). Cilj je postizanje remisije ili niske aktivnosti bolesti u prvih 6 mjeseci liječenja (28). Osnovni lijekovi u liječenju RA su oni koji mijenjaju tijek bolesti (engl. DMARDs). Oni smanjuju upalu i oštećenje zgloba. Dvije su glavne skupine DMARD lijekova, sintetski i biološki. Sintetski se dodatno dijele na konvencionalne i ciljane, tj. usmjerene na ciljanu molekulu. Zlatni standard u liječenju RA je metotreksat. Uz njega se mogu primijeniti glukokortikoidi u maloj do umjerenoj dozi koja protektivno djeluje na zglobove dok metotreksat ne prodjeluje jer se puni učinak DMARD-a očituje za 3 mjeseca. Zbog nuspojava, doza glukokortikoida treba se postupno smanjivati i potpuno ukinuti kroz 6

mjeseci. Ako se na kontrolnom pregledu ne utvrdi poboljšanje bolesti, dozu lijeka treba povisiti ili zamijeniti drugim sintetskim ili biološkim DMARD-om. Biološki DMARD-ovi ciljano djeluju na imunološke stanice i glavne citokine u RA, pa tako razlikujemo TNF- $\alpha$  inhibitore (infliksimab, etanercept), inhibitore IL-6 (tocilizumab), inhibitore kostimulacije T limfocita i blokatore B limfocita (rituksimab). Oni su značajno popravili prognozu bolesti za one bolesnike koji ne odgovaraju na konvencionalne DMARD-ove. Kad se postigne remisija, liječenje treba zadržati još 6 mjeseci i ako bolesnik i dalje bude u remisiji liječnik može razmisliti o smanjivanju doze i postupnom ukidanju lijeka (29).

Uz osnovnu bolest bolesnici s reumatoidnim artritismom suočeni su i s brojnim komorbiditetima. Glavni komorbiditet vezan je uz kardiovaskularni sustav i ujedno je vodeći uzrok povećanog mortaliteta ovih bolesnika u odnosu na opću populaciju (11,17). Bolesnici s RA češće obolijevaju od ishemične bolesti srca, infarkta miokarda i moždanog udara (30). Imaju povećan rizik za infekcije dišnog i mokraćnog sustava te od nekih malignih bolesti (limfoma, karcinoma pluća i kože) (11,17,30). Dio bolesnika oboli i od intersticijske bolesti pluća, osteopenije i osteoporoze. U ovih bolesnika češća je i depresija (30). Svi ovi komorbiditeti dodatno narušavaju kvalitetu života bolesnika s RA i ujedno otežavaju liječenje osnovne bolesti te umanjuju izgleda za dobar ishod.

Unatoč napretku u razumijevanju patogeneze reumatoidnog artritisa i brojnim novim lijekovima koji poboljšavaju izgled bolesnika za pozitivan ishod bolesti, nedostaje način kako rano detektirati bolest. Prepoznavanje bolesti u pretkliničkoj fazi otvorilo bi vrata mogućoj intervenciji koja bi spriječila razvoj bolesti. Osim toga, i trenutno još važnije, je nemogućnost prepoznavanja subkliničke upale osim kompliciranim metodama, nepraktičnima u svakodnevnom radu. Postojeći kriteriji za remisiju odnose se na kliničku remisiju bolesti, međutim u nekih pacijenata je nađena upalna aktivnost u zglobovima, unatoč kliničkoj remisiji (17). Stoga su aktualni napor u istraživanjima usmjereni na otkrivanje načina detekcije pretkliničke faze bolesti i subkliničke upale u već razvijenoj bolesti koji bi se mogli primijeniti u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

### 3.2. Sustavni eritemski lupus

Sustavni eritemski lupus (SLE) je kronična autoimuna bolest koja može zahvatiti bilo koji organski sustav, a najčešće pogađa kožu, zglobove, krvne stanice, bubrege, srce i središnji živčani sustav. U većine bolesnika prisutni su nespecifični simptomi, a u svih nalazimo specifična autoprotutijela u plazmi. Tijek bolesti je obilježen remisijama i relapsima. S vremenom može doći do kroničnog oštećenja uz smanjenje funkcije zahvaćenih organa, što značajno narušava kvalitetu života bolesnika. Iako je preživljenje mnogo bolje nego nekad, zbog komorbiditeta i komplikacija bolesti te posljedica nuspojava lijekova bolesnici prosječno kraće žive od opće populacije (31). Unatoč brojnim istraživanjima, malo toga sa sigurnošću znamo o etiopatogenezi SLE, no svakako je riječ o složenoj bolesti. Na to upućuje heterogenost kliničke slike, koja može jako varirati od bolesnika do bolesnika s obzirom na zahvaćene organe, težinu bolesti, velik broj različitih autoprotutijela koje nalazimo u bolesnika te s obzirom na činjenicu da je više novih lijekova isprobano, ali samo jedan lijek je u posljednjih 60 godina i odobren u liječenju SLE.

Procjenjuje se da je incidencija SLE od 1 do 25 na 100.000 stanovnika (32). Češće se javlja u žena a omjer se mijenja s dobi i iznosi 3:1 u dječjoj, 7:1-15:1 u odrasloj i 8:1 u starijoj dobi (32). Za tu razliku mogao bi biti odgovoran utjecaj spolnih hormona na imunski sustav, jer je poznato da estrogini djeluju stimulirajuće, a androgeni suprimirajuće. Drugo objašnjenje te razlike jest da je to posljedica čimbenika vezanih uz X-kromosom. Naime, među bolesnicima sa SLE prevalencija Klinefelterovog sindroma (47-XXY) je 14 puta veća nego u općoj muškoj populaciji, dok je među bolesnicima sa SLE udio onih s Turnerovim sindromom (45-XO) manji nego u općoj ženskoj populaciji (32).

Iako je mnogo toga o etiologiji SLE još nepoznato, sigurno jest da je to multifaktorijalna bolest. Genetski čimbenici stvaraju podlogu za razvoj bolesti, dok su okolišni čimbenici okidači. Brojni su dokazi za genetsku komponentu bolesti. Kao i kod RA, učestalost bolesti veća je među jednojajčanim nego dvojajčanim blizancima, a rizik za bolest je 10 do 29 puta veći u osoba s pozitivnom obiteljskom anamnezom u odnosu na opću populaciju (32). Za više od 100 lokusa nađeno je da su povezani s povećanim rizikom za SLE (33). Velika većina njih ima mali pojedinačni utjecaj na povećanje rizika, međutim akumulacijom patoloških lokusa rizik raste sve dok se u jednom trenutku, u kombinaciji s odgovarajućim okolišnim čimbenicima, ne prijeđe prag te dođe do pokretanja patoloških procesa i razvoja bolesti. Zajedničko svim tim lokusima je da kodiraju proteine uključene u imunološke procese (33).

Neki se nalaze u kodirajućem dijelu gena, a velik broj je u regulatornoj sekvenci (33). Najpoznatija je povezanost s lokusima HLA DR2 i HLA DR3, koji dvostruko povećavaju rizik od SLE (32). Drugi lokusi povezani su s proizvodnjom i signalnim putevima interferona tipa 1 (INF tip 1), komponentama komplementa, nukleazama i signalnim putevima limfocita. Svojevrsnu iznimku čine mutacije koje uzrokuju deficijenciju C1q, C2 ili C4 komponenti komplementa jer one same i do 25 puta povećavaju rizik za razvoj SLE, iako su te varijante jako rijetke (32,33). Rezultat opisanih genetskih promjena je poremećena fagocitoza i usporeno uklanjanje apoptotičnih stanica i imunokompleksa. Nuklearni antigeni koji su inače nedostupni imunološkom sustavu, perzistiraju i aktiviraju ga, potaknuta je proizvodnja autoprotutijela, inhibirana je apoptoza autoreaktivnih B limfocita, pojačana je aktivnost T pomagačkih, a smanjena T supresorskih limfocita (32). Međutim, udio genetskih faktora u razvoju SLE je svega 18%, dok ostatak pripada okolišnim čimbenicima (32). Najvažniji među okolišnim čimbenicima su izloženost ultraljubičastom (UV) zračenju, lijekovima, virusnim infekcijama (osobito EBV) i pušenje (33). Oni nespecifičnim mehanizmima potiču upalne procese ili epigenetskim modifikacijama (demetilacijom DNA i aciliranjem histona) djeluju na gensku ekspresiju (33). Neki lijekovi koji mogu potaknuti nastanak SLE u osoba s genetskom predispozicijom su hidralazin, penicilamin, TNF- $\alpha$  inhibitori, hormonsko nadomjesno liječenje i oralna kontracepcija s visokom dozom estrogena (34,35). Isti čimbenici u bolesnika sa SLE povećavaju i rizik od pojave relapsa.

Među citokinima u SLE središnju ulogu ima INF tip 1. Stvaranje INF tip 1 potaknuto je aktivacijom TLR receptora koji prepoznaju strane (bakterijske i virusne) i vlastite nuklearne antigene (35). Uslijed UV zračenja i infekcija dolazi do oštećenja stanica i oslobađanja nuklearnog sadržaja pa u osoba u kojih je uklanjanje apoptotičnih stanica usporeno, TLR signalni putevi su pojačano aktivirani i dolazi do hiperprodukcije INF tip 1 (32). Oni potiču antigen prezentirajuće stanice i tako pokreću mehanizme stečene imunosti te stvaranje autoprotutijela. Drugi važni citokini u patogenezi SLE su TNF- $\alpha$ , IL-6 i BlyS. BlyS (stimulator B limfocita), čija je razina povišena u serumu bolesnika sa SLE, potiče sazrijevanje B limfocita i produžuje preživljenje plazma stanica i memorijskih B stanica (32). Isti učinak imaju i pomoćnički T limfociti, koji su također, pojačano aktivni. Mehanizmi stečene imunosti pokreću mehanizme urođene imunosti koji imaju glavnu ulogu u oštećivanju tkiva i to postižu na nekoliko načina. Prvi je aktivacija komplementa koji prepoznaje Fc fragment imunoglobulina G. Pritom se protutijela vežu na vlastite antigene koji se nalaze u tkivu, ili pak dolazi do odlaganja slobodnih antigena u tkivima na koja se onda vežu slobodna

cirkulirajuća protutijela. Također u tkivima se mogu odlagati već stvoreni cirkulirajući imunokompleksi. Aktivacija komplementa vodi u hipokomplementemiju koja se u laboratorijskim nalazima očituje sniženom razinom C3 i C4 komponenti, a ujedno je i jedan od pokazatelja aktivnosti bolesti. Drugi način tkivnog oštećenja je u izravnoj aktivaciji makrofaga, putem Fc fragmenta IgG i receptora na površini makrofaga. Treći način je aktiviranje citotoksičnosti posredovane protutijelima, pri čemu se protutijela vežu za nuklearne antigene izražene na površini stanice.

Klinička slika vrlo je heterogena, varira od bolesnika do bolesnika, i u pojedine osobe. Tijek bolesti je intermitentan i varijabilne težine, od blagog do teškog. Relapsi su spontani ili inducirani izlaganjem UV zračenju, infekcijama, traumom i/ili lijekovima (35). Bolest se nerijetko prezentira nespecifičnim simptomima, umorom, povišenom temperaturom i gubitkom tjelesne težine (36). Zbog osnovne bolesti i primijenjenih lijekova bolesnici sa SLE su često imunosuprimirani. U onih s povišenom temperaturom važno je isključiti druge uzroke, tj. infekcije i maligne bolesti, jer su važan uzrok morbiditeta u ovih bolesnika (37). U preko 90% bolesnika javlja se bolnost i otečenost zglobova, često vrlo rano u tijeku bolesti (36). Artritis je najčešće poliartikularan, simetričan, migrirajući, najčešće neerozivan, pa su strukturna oštećenja i deformiteti zglobova rjeđi u odnosu na RA, gdje je artritis erozivan. U većine bolesnika zahvaćeni su koža i sluznice (36). Tipičan nalaz na koži je leptirasti eritem koji zahvaća korijen nosa i obraza, dok su nazolabijalne brazde pošteđene. Mogu se javiti diskoidne lezije koje imaju sklonost ožiljkavanju. U nekih bolesnika razvija se alopecija. Za bolesnike je karakteristična fotosenzitivnost i pogoršanje kožnih promjena s izlaganjem suncu. Osim toga, izlaganje suncu pogoršava ukupnu aktivnost i sustavne manifestacije bolesti (38,39). Na sluznici nosa i usne šupljine javljaju se bezbolne ulceracije. U oko 50% bolesnika bolest zahvaća bubrege i uzrokuje glomerulonefritis, koji se može prezentirati asimptomatskom proteinurijom ili hematurijom, nefrotskim sindromom ili u slučaju brzoprogresivnog glomerulonefritisa akutnim zatajenjem bubrega (36). U krvnoj slici česta je anemija, leukopenija i trombocitopenija. U slučaju anemije najčešće je riječ o anemiji kronične bolesti, a rjeđe o autoimunoj anemiji, dok leukopenija najčešće nastaje na račun sniženih limfocita (36). Upala može zahvatiti serozne membrane s razvojem pleuritisa i perikarditisa, s boli u prsima i izljevom u seroznim šupljinama. Osim toga na srcu bolesnika sa SLE može nastati verukozni Liebman-Sacksov endokarditis s razvojem valvularne insuficijencije, miokarditis i smetnje provođenja. SLE zahvaća i središnji živčani sustav s raznolikom simptomatologijom, uključujući kognitivnu disfunkciju, psihoorganski sindrom,

delirij, psihozu, epileptične napadaje, glavobolju, poremećaje kretanja te periferne živce. Zahvaćanje krvnih žila dovodi do vaskulitisa, najčešće malih krvnih žila koji je ujedno u podlozi kožnih lezija, ali može zahvatiti krvne žile svih veličina i lokalizacija u tijelu. U nekih se bolesnika javlja Raynaudov fenomen. Žene s aktivnim SLE imaju veću učestalost spontanih pobačaja i češće razvijaju komplikacije u trudnoći (40). Kako bi se rizici vezani uz trudnoću sveli na minimum bolesnice bi trebale biti u remisiji barem 6 mjeseci prije začeća, a tijekom trudnoće češće kontrolirane (41). Rizik od komplikacija naročito je visok u žena s lupusnim nefritisom (34). Na oku SLE se očituje kao keratokonjunktivitis sicca posljedično razvoju sekundarnog Sjögrenovog sindroma ili kao vaskularna retinopatija, iako može zahvatiti bilo koju strukturu oka (42). Uz opisanu heterogenost kliničke slike, u bolesnika sa SLE nalazimo i širok spektar različitih protutijela. Glavna protutijela su antinuklearna protutijela (ANA) usmjerena protiv sastavnica stanične jezgre. Ne moraju biti prisutna u trenutku postavljanja dijagnoze, ali u svih postaju pozitivna u tijeku bolesti (43). Međutim, ANA su nespecifična i mogu biti prisutna i u zdravih osoba. Visokospecifična protutijela za SLE su anti-dsDNA protiv dvostruke uzvojnice DNA te anti-Sm protiv malih nuklearnih ribonukleoproteina (snRNP) (43). Relativno često bolesnici imaju pozitivna antifosfolipidna protutijela, koja su u 15% slučajeva povezana s antifosfolipidnim sindromom (33,34). Bolesnici s antifosfolipidnim sindromom imaju povećan rizik od razvoja arterijskih i venskih tromboza te veću učestalost tromboembolijskih incidenata i pobačaja (44). Ostala protutijela koja možemo naći u bolesnika sa SLE su anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-U1-RNP, protutijela protiv topoizomerase, centromera, histona i druga. Mnoga od tih protutijela nalaze se i u drugim bolestima, što je važno u diferencijalnoj dijagnozi. SSA i SSB protutijela nalazimo u Sjögrenovom sindromu, anti-U1-RNP u miješanoj bolesti vezivnog tkiva, anticentromerna i protutijela protiv topoizomeraza u sustavnoj sklerodermiji. Dodatno, SSA i SSB protutijela prolaze kroz posteljicu i interferiraju s razvojem provodnog sustava, što za posljedicu ima razvoj srčanog bloka, glavne manifestacije neonatalnog lupusa (34).

Dijagnoza SLE-a temelji se na kliničkoj slici, laboratorijskim nalazima i isključivanju drugih bolesti. Laboratorijski nalazi tipično pokazuju ubrzanu sedimentaciju eritrocita, povećanu plazmatsku koncentraciju CRP-a, a sniženu C3 i C4 komponenti komplementa te povećan titar ANA i drugih protutijela. Kao pomoć u postavljanju dijagnoze koristimo klasifikacijske kriterije Američkog reumatološkog društva (engl. ACR od American College of Rheumatology) prema kojima je potrebno zadovoljiti 4 od 11 kriterija za postavljanje dijagnoze SLE-a (tablica 2) (45). Kriteriji ne moraju biti prisutni svi istovremeno, nego čim se



jedan pojavi trajno ostaje zadovoljen. Međutim, ti su kriteriji razvijeni za klasificiranje u kliničkim istraživanjima, kako bi se standardiziralo uključivanje bolesnika i formiranje skupina, a ne u dijagnostičke svrhe, te mnoge manifestacije SLE-a ovim kriterijima nisu obuhvaćene, nego samo najčešće (33,43,46). Stoga se dijagnoza SLE-a u konačnici temelji na stručnoj procjeni specijalista reumatologa.

Tablica 2. Klasifikacijski kriteriji Američkog reumatološkog društva za sustavni eritemski lupus iz 1997. godine (45,47).

Kriterij ACR-a	Definicija
Leptirasti eritem	fiksni eritem, u razini ili iznad razine kože obraza, sklon poštediti nazolabijalnih brazda
Diskoidni osip	crveni uzdignuti kožni plakovi prekriveni keratotičnim ljuskama i folikularnim čepovima; atrofično ožiljkavanje može nastupiti u starijim lezijama
Fotosenzitivnost	kožni osip kao rezultat neuobičajene reakcije na Sunčevu svjetlost, prema anamnezi ili opservaciji liječnika
Oralne ulceracije	oralne ili nazofaringealne ulceracije, obično bezbolne, uočio ih je liječnik
Artritis	neerozivni artritis koji zahvaća $\geq 2$ periferna zgloba, karakteriziran osjetljivošću na dodir, oteklinom ili izljevom
Serozitis	a) pleuritis – uvjerljiva anamneza pleuritične boli ili trenje koje je čuo liječnik ili dokaz pleuralnog izljeva b) perikarditis – dokumentiran EKG-om, trenjem ili dokazom perikardijalnog izljeva
Bubrežni poremećaj	a) perzistentna proteinurija $> 0,5$ g/dan ili $> 3+$ b) stanični cilindri – eritrocitni, hemoglobinski, granularni, tubularni ili miješani
Neuropsihijatrijski poremećaj	a) epilepsija b) psihoza (obje u izostanku podražajnih lijekova ili poznatoga metaboličkog poremećaja kao što su uremija, ketoacidoza ili elektrolitni disbalans)
Hematološki poremećaj	a) hemolitička anemija s retikulocitozom b) leukopenija – $< 4000/\text{mm}^3$ u barem dva navrata c) limfopenija – $< 1500/\text{mm}^3$ u barem dva navrata d) trombocitopenija – $< 100.000/\text{mm}^3$ bez podražajnih lijekova
Imunosni poremećaj	1. anti-dsDNA protutijela u abnormalnom titru 2. prisutnost protutijela protiv Sm-nuklearnog antigena 3. pozitivan nalaz antifosfolipidnih protutijela: – abnormalna razina antikardiolipinskih protutijela IgM ili IgG u serumu ili – pozitivan nalaz testa za lupusni antikoagulans dobiven standardnom metodom ili – lažno pozitivan test na sifilis
Antinuklearna protutijela	abnormalan titar antinuklearnih protutijela određen imunofluorescencijom ili ekvivalentnim esejem

Prema preporukama bolesnike u remisiji trebalo bi kontrolirati minimalno svakih 6 mjeseci, a u slučaju aktivne bolesti češće (41,48). U procjeni aktivnosti bolesti vodimo se simptomima, znakovima i laboratorijskim nalazima. Među njima najvažniji su kompletna krvna slika, sedimentacija eritrocita, plazmatska koncentracija CRP-a, C3 i C4 komponenti komplementa i titar anti-dsDNA protutijela. Važno je redovito kontrolirati bubrežnu funkciju s obzirom na to da zahvaćenost bubrega može teći asimptomatski. Pritom kontroliramo urin i sediment urina na proteinuriju, hematuriju i prisutnost cilindara te klirens kreatinina. Ovisno o prisutnosti drugih simptoma provodimo dodatne pretrage, npr. EKG, rengenogram srca i pluća, CT glave, MR mozga itd. Za objektivizaciju procjene aktivnosti bolesti razvijeno je nekoliko indeksa. Neki procjenjuju globalnu aktivnost bolesti kao npr. indeks SLEDAI-2K, a neki aktivnost bolesti u pojedinom organu, npr. indeks BILAG-2004. No, i oni se dominantno koriste u kliničkim istraživanjima te iako preporuke nalažu njihovu uporabu u svakodnevnoj praksi, nisu za to praktični.

Liječenje sustavnog eritemskog lupusa je individualno i ovisi o glavnim tegobama, zahvaćenim organima, aktivnosti bolesti i odgovoru na zadnje primijenjeno liječenje. Općenito prva linija lijekova za sve bolesnike su antimalarici hidrosiklorokin ili klorokin, ako nema kontraindikacija (49,50). U slučaju teže kliničke slike, ali bez neposredne ugroženosti organa kratkotrajno se uvode glukokortikoidi ili imunosupresivni lijekovi poput azatioprina i metotreksata. U slučaju teške kliničke slike i simptoma koji ugrožavaju život, npr. kod zahvaćenosti bubrega ili SZS-a, provodi se intenzivno imunosupresivno liječenje kojem je cilj zaustaviti oštećenje organa (41). To se najčešće postiže inicijalnim liječenjem visokim dozama sustavnih glukokortikoida, samih ili u kombinaciji s drugim imunosupresivnim lijekovima, npr. ciklofosfamidom, mikofenolat mofetilom ili azatioprinom (33,41). Nakon postignutog željenog učinka nastavlja se još određeno duže vrijeme održavajuće liječenje nižim dozama lijekovima kojem je cilj održati remisiju bolesti, ali s manje nuspojava lijekova. Od bioloških lijekova samo je belimumab, inhibitor BlyS, odobren za liječenje SLE (33,51). Uz farmakoterapiju, bitno je izbjegavati potencijalne okidače, tj. kloniti se izlaganja suncu i koristiti kreme sa zaštitnim faktorom. Cilj liječenja je postizanje remisije, sprječavanje oštećenja organa i pojave relapsa uz minimalne štetne učinke liječenja (52).

Tijek sustavnog eritemskog lupusa obilježen je brojnim komplikacijama i komorbiditetima koji su posljedica osnovne bolesti i toksičnih učinaka lijekova. Među njima posebno se ističu infekcije, kardiovaskularne bolesti i kronična bubrežna bolest kao glavni

uzroci povećanog morbiditeta i 2 do 5 puta većeg mortaliteta u odnosu na opću populaciju (53). Podložnost infekcijama posljedica je bolesti koja narušava funkciju imunološkog sustava, ali i imunosupresivnog liječenja. Sklonost aterosklerozi i povećan kardiovaskularni rizik posljedica su kronične sustavne upale i tromboembolijskih incidenata u bolesnika s antifosfolipidnim protutijelima. Dugotrajna uporaba glukokortikoida dovodi do osteoporoze, katarakte i sekundarne šećerne bolesti. U bolesnika sa zahvaćenošću SŽS-a često nalazimo smanjenje kognitivnih sposobnosti (54). Sve navedeno značajno smanjuje kvalitetu života bolesnika sa SLE (55).

Kao i kod drugih autoimunih bolesti puno toga je još nepoznato kod SLE. Ono što u praksi nedostaje je način ranog otkrivanja bolesti, prije pojave simptoma te metode za objektivnu, sigurnu i brzu procjenu aktivnosti i težine bolesti, za rano otkrivanje relapsa i predviđanje odgovora na liječenje. Napredak u ovim saznanjima omogućio bi raniju i uspješniju intervenciju, s boljim ishodom, manjim oštećenjem organa i u konačnici boljom kvalitetom života bolesnika.

### 3.3. Omjer neutrofila i limfocita

Unatrag nekoliko godina omjer neutrofila i limfocita (NLR) prepoznat je kao mogući marker upale. Njegova prednost je u brznoj i širokoj dostupnosti jer se dobiva iz diferencijalne krvne slike koja se može napraviti u svakom medicinsko-biokemijskom laboratoriju i niskoj cijeni. NLR-om bismo mogli dobiti informaciju o aktivnosti i/ili prognozi bolesti bez potrebe za skupom opremom i posebno educiranim osobljem odnosno računanjem indeksa aktivnosti, što nerijetko oduzima vrijeme i nije praktično u svakodnevnom radu. Prvi put se u medicinskoj literaturi NLR spominje još 1967. godine kada je u eksperimentalnom modelu pokazano da NLR korelira s izloženošću ozonu (56). Nakon toga, sljedećih 30 do 40 godina istraživanja NLR su sporadična, češće na eksperimentalnim modelima i u području veterinarske medicine. Međutim, u posljednjih 20-ak godina interes za NLR u mnogim granama medicine je porastao. Istraživanja u području malignih bolesti upućuju da je veći NLR prediktor lošijeg ukupnog i specifičnog preživljenja, preživljenja bez progresije bolesti i preživljenja bez bolesti u bolesnika sa solidnim tumorima svih lokalizacija i stadija bolesti (57). Nadalje, veći NLR prediktor je većeg mortaliteta bez obzira na uzrok kao i kardiovaskularnih događaja nakon angiografije i srčane revaskularizacije, posebice u bolesnika sa STEMI (58). NLR pozitivno korelira s težinom metaboličkog sindroma, prediktor je razvoja dijabetesa u pretilih osoba bez metaboličkog sindroma, a također iz istraživanja proizlazi da je viši u pušača s normalnim BMI u odnosu na nepušače (59). Neki radovi upućuju da je NLR u korelaciji s težinom apendicitisa te da bi mogao biti primjenjiv u diferenciranju kompliciranog od nekompliciranog apendicitisa, s posljedičnim utjecajem i na pristup u liječenju. Naime, poznato je da neki bolesnici s apendicitisom mogu biti konzervativno liječeni i pošteđeni kirurškog zahvata. Međutim, još uvijek nedostaju klasifikacijski kriteriji po kojima bismo ih mogli razlikovati (60,61). Prema nekim istraživanjima, NLR je dobar prediktor razvoja i težine preeklampsije kao i razvoja gestacijskog dijabetesa u trudnoći (62–64). Prema jednoj meta-analizi NLR je veći u bolesnika s poremećajem raspoloženja (65).

Dosad poznata istraživanja pokazuju da je NLR veći u bolesnika s RA nego u zdravih kontrola i pozitivno korelira s pokazateljima aktivnosti bolesti (plazmatskom koncentracijom CRP-a, SE, DAS28CRP-om, DAS28ESR-om) (66–69), dok prema jednom istraživanju nema razlike u NLR između bolesnika u remisiji i bolesnika s aktivnom bolesti (70). Istraživanja NLR u SLE ima manje i kontradiktorna su. Prema većini istraživanja NLR je veći u bolesnika sa SLE nego u zdravih kontrola (71,72) i veći je u bolesnika s lupusnim nefritisom nego u

bolesnika bez nefritisa (71–73). Prema nekim istraživanjima NLR pozitivno korelira s plazmatskom koncentracijom CRP-a, SE i SLEDAI (69,71,73), ali prema drugima nema razlike u NLR između bolesnika u remisiji i bolesnika s aktivnom bolesti (70). Prema jednoj meta-analizi nema razlike u NLR između bolesnika sa SLE i zdravih kontrola (66). Kod autoimunih bolesti i sama bolest može biti povezana s hematološkim promjenama, npr. jedna od manifestacija SLE je citopenija koja može zahvatiti sve ili bilo koju pojedinačnu lozu krvnih stanica. Nadalje, lijekovi mogu utjecati na broj krvnih stanica, primjerice glukokortikoidi koji povećavaju broj neutrofila, a smanjuju broj limfocita u perifernoj krvi.

Brojna istraživanja pokazuju da je NLR pokazatelj sustavne upale. Međutim, nije jasno ustanovljeno koje promjene u broju neutrofila i limfocita utječu na njihov omjer. Omjer se može povećati zbog relativnog povećanja iznosa brojnika ili smanjenja iznosa nazivnika. Kako će određeni patološki proces koji uzrokuje sustavnu upalu utjecati na NLR ovisi o patofiziološkim značajkama tog procesa i njegovu utjecaju na broj tih stanica. Na primjeru dviju autoimunih bolesti, RA i SLE, koji je povezan s limfopenijom, pokušat ćemo objasniti kako promjene broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi utječu na NLR. U obje bolesti NLR korelira s aktivnosti sustavne upale (prosudenoj prema plazmatskoj koncentraciji CRP-a), ali nije poznato kako promjene u broju neutrofila i limfocita u perifernoj krvi doprinose tim promjenama.

## 4. Hipoteza

Pretpostavljamo da će se promjene u broju neutrofila i limfocita u perifernoj krvi uzrokovane sustavnom upalom u RA i SLE odraziti u omjeru neutrofila i limfocita sukladno patofiziološkim mehanizmima sustavne upale u tim bolestima. U slučaju SLE očekujemo da će porast NLR biti posljedica limfopenije, a promjene u RA tek treba istražiti.

## **5. Cilj rada**

1. Objasniti mehanizam promjena omjera neutrofila i limfocita vezan uz aktivnost bolesti i posebno sustavne upale.
2. Razmotriti moguću kliničku primjenu NLR u prosudbi aktivnosti bolesti u RA i SLE.

## 6. Ispitanici i metode

### 6.1. Ispitanici

Ispitivanje je povijesno, a ispitanici su bolesnici s reumatoidnim artritismom i sustavnim eritemskim lupusom. Podaci su prikupljeni iz bolničkog informacijskog sustava (BIS-a) za bolesnike koji su liječeni u Zavodu za kliničku imunologiju, alergologiju i reumatologiju, KB Dubrava i u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju, KBC Zagreb u razdoblju od 2006. do lipnja 2016. godine. Iz baze podataka nasumično su izabrani oni podaci koji su sadržavali sve ispitivane parametre za pojedinog bolesnika do ukupnog broja od  $n = 181$  za RA i  $n = 146$  za SLE, što je iznad broja ispitanika ( $n = 60$ ) potrebnog za snagu istraživanja koja će pokazati kao statistički signifikantnu 25% razliku iznosa NLR uz  $p < 0.05$ . Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine, u remisiji i s aktivnom bolesti. Za bolesnike s RA granična vrijednost DAS28CRP bila je 2.6, a za bolesnike sa SLE granična vrijednost SLEDAI bila je 3. Bolesnici s RA podijeljeni su i u dvije skupine prema tome jesu li liječeni glukokortikoidima ili nisu. Omjer neutrofila i limfocita (NLR) dobiven je iz apsolutnih brojeva neutrofila i limfocita u perifernoj krvi.

### 6.2. Statistička analiza

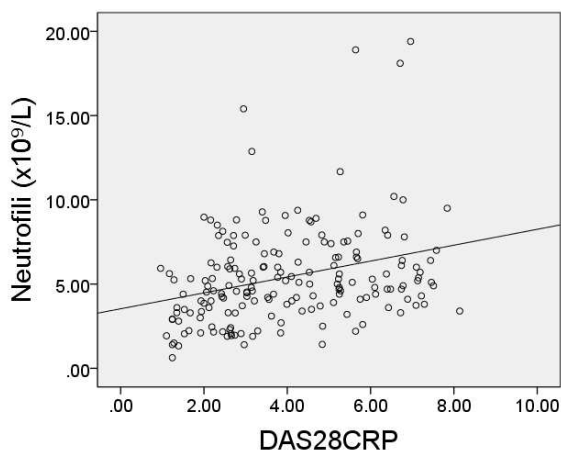
Podaci su statistički obrađeni programom SPSS23. Normalnost raspodjele podataka testirana je Kolgomorov-Smirnovim testom koji je pokazao da podaci nisu normalno raspodijeljeni pa su primijenjene neparametarske metode. Rezultati su izraženi medijanom i interkvartilnim rasponom, a razlike među skupinama testirane su Mann-Whitneyevim testom. Za procjenu korelacija između pojedinih parametara primijenjen je Spearmanov rho koeficijent.



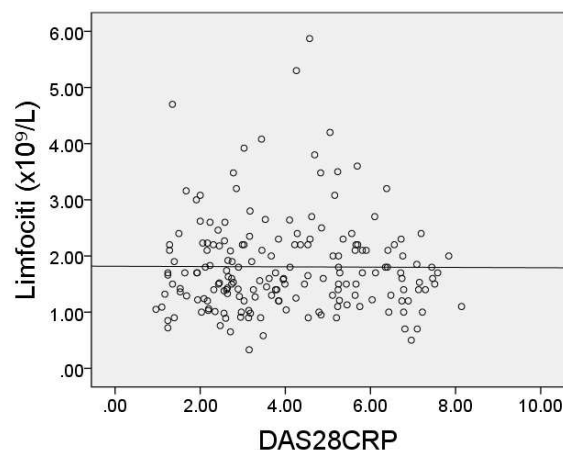
## 7. Rezultati

Korelacije ispitivanih parametara u bolesnika s RA prikazane su u tablici 3.

Ustanovljena je pozitivna korelacija broja neutrofila u perifernoj krvi s DAS28CRP-om (slika 1), a nije ustanovljena korelacija između broja limfocita i DAS28CRP-a (slika 2). Regresijski pravac odnosa broja limfocita i DAS28CRP-a je gotovo paralelan s apscisom što jasno pokazuje da se broj limfocita u perifernoj krvi minimalno mijenja s porastom DAS28CRP-a.

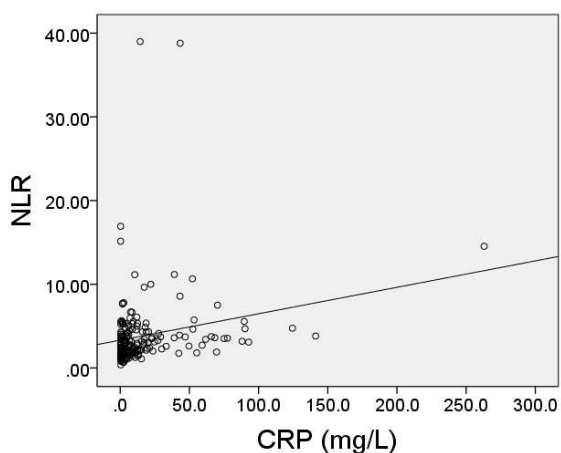


Slika 1. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila u perifernoj krvi i iznosa DAS28CRP-a u bolesnika s RA.  $y = 0.472x + 3.353, p < 0.001$

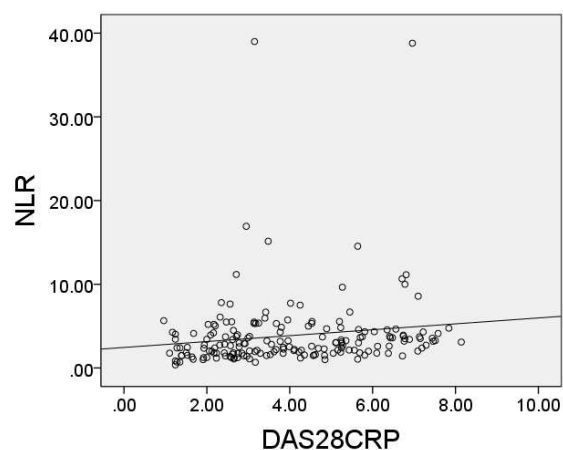


Slika 2. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i iznosa DAS28CRP-a u bolesnika s RA.  $y = -0.003x + 1.817, p = 0.94$

Omjer neutrofila i limfocita (NLR) je u pozitivnoj korelaciji s brojem neutrofila u perifernoj krvi, plazmatskom koncentracijom CRP-a (slika 3), brojem otečenih i bolnih zglobova i iznosom DAS28CRP-a (slika 4), a u negativnoj korelaciji s brojem limfocita.

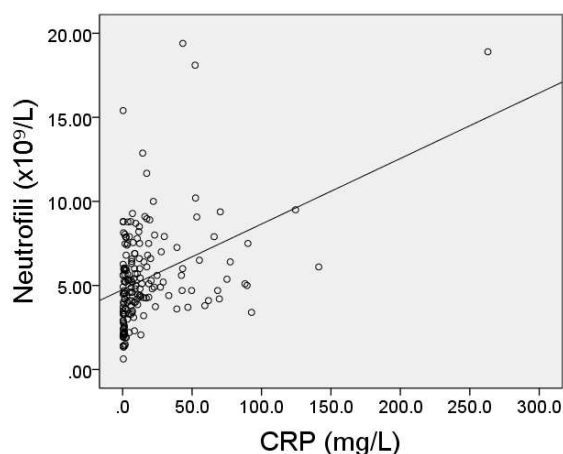


Slika 3. Regresijska analiza odnosa NLR i plazmatske koncentracije CRP-a u bolesnika s RA.  $y = 0.032x + 3.322, p = 0.004$



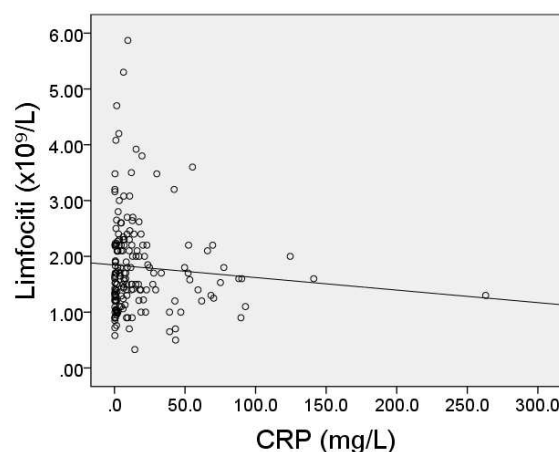
Slika 4. Regresijska analiza odnosa NLR i iznosa DAS28CRP-a u bolesnika s RA.  $y = 0.352x + 2.452, p = 0.052$

Plazmatska koncentracija CRP-a je u pozitivnoj korelaciji s brojem neutrofila u perifernoj krvi (slika 5), brojem otečenih i bolnih zglobova i s HAQ indeksom, a nije pokazana korelacija s brojem limfocita, te je regresijski pravac između broja limfocita i plazmatske koncentracije CRP-a statistički beznačajno nagnut što znači da se broj limfocita u perifernoj krvi značajno ne mijenja s aktivnosti upale (slika 6).



Slika 5. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije CRP-a u bolesnika s RA.

$$y = 0.039x + 4.755, p < 0.001$$



Slika 6. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije CRP-a u bolesnika s RA.

$$y = -0.002x + 1.845, p = 0.287$$

Rezultati ukazuju da je porast NLR s porastom CRP-a i DAS28CRP-a na račun porasta neutrofila uz beznačajne promjene broja limfocita.

Korelacije plazmatske koncentracije CRP-a te broja otečenih i bolnih zglobova s DAS28CRP-om nisu računate jer su ti parametri sadržani u izračunu DAS28CRP indeksa.

Usporedba ispitivanih parametara u bolesnika s RA u remisiji i s aktivnom bolesti prikazana je u tablici 4. U bolesnika s aktivnom bolesti veći je broj leukocita i neutrofila u perifernoj krvi, podjednak je broj limfocita, veći je omjer neutrofila i limfocita, plazmatska koncentracija CRP-a, broj otečenih i bolnih zglobova te su veći iznosi DAS28CRP i HAQ indeksa.

Omjer neutrofila i limfocita podjednak je u skupini bolesnika koji su liječeni (2.71, 1.75-5.24) i koji nisu liječeni glukokortikoidima (3.05, 1.95-3.96) ( $p = 0.943$ , rezultati su izraženi kao medijani i interkvartilni rasponi).

Tablica 3. Korelacije ispitivanih parametara u bolesnika s RA ( $n = 181$ ).

		Neutrofili	Limfociti	NLR	CRP	Otečeni zglobovi	Bolni zglobovi	DAS28CRP	HAQ ( $n = 96$ )
Neutrofili	<i>r</i>	1	0.045	<b>0.716</b>	<b>0.417</b>	<b>0.165</b>	<b>0.221</b>	<b>0.328</b>	0.060
	<i>p</i>		0.546	<0.001	<0.001	0.027	0.003	<0.001	0.561
Limfociti	<i>r</i>	0.045	1	<b>-0.601</b>	0.068	-0.034	0.034	0.022	-0.172
	<i>p</i>	0.546		<0.001	0.363	0.648	0.649	0.772	0.093
NLR	<i>r</i>	<b>0.716</b>	<b>-0.601</b>	1	<b>0.326</b>	<b>0.177</b>	<b>0.152</b>	<b>0.254</b>	0.163
	<i>p</i>	<0.001	<0.001		<0.001	0.018	0.042	0.001	0.113
CRP	<i>r</i>	<b>0.417</b>	0.068	<b>0.326</b>	1	<b>0.521</b>	<b>0.472</b>		<b>0.363</b>
	<i>p</i>	<0.001	0.363	<0.001		<0.001	<0.001		<0.001
Otečeni zglobovi	<i>r</i>	<b>0.165</b>	-0.034	<b>0.177</b>	<b>0.521</b>	1	<b>0.701</b>		<b>0.331</b>
	<i>p</i>	0.027	0.648	0.018	<0.001		<0.001		0.001
Bolni zglobovi	<i>r</i>	<b>0.221</b>	0.034	<b>0.152</b>	<b>0.472</b>	<b>0.701</b>	1		<b>0.428</b>
	<i>p</i>	0.003	0.649	0.042	<0.001	<0.001			<0.001
DAS28CRP	<i>r</i>	<b>0.328</b>	0.022	<b>0.254</b>				1	<b>0.477</b>
	<i>p</i>	<0.001	0.772	0.001					<0.001
HAQ ( $n = 96$ )	<i>r</i>	0.060	-0.172	<b>0.163</b>	<b>0.363</b>	<b>0.331</b>	<b>0.428</b>	<b>0.477</b>	1
	<i>p</i>	0.561	0.093	0.113	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	

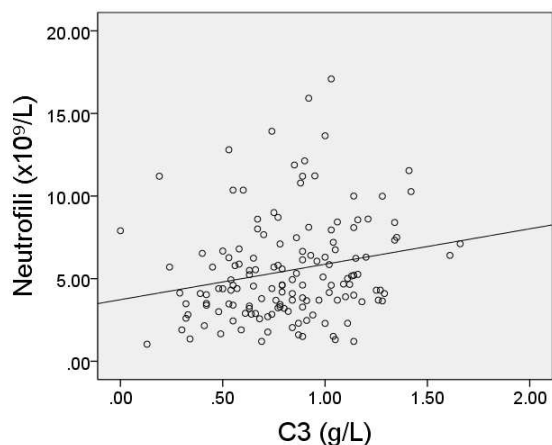
Tablica 4. Usporedba ispitivanih parametara u bolesnika s RA u remisiji i s aktivnom bolesti.

Ispitivani parametri	DAS28CRP $\leq 2.6$ ( $n = 49$ )	DAS28CRP $> 2.6$ ( $n = 132$ )	<i>p</i>
Leukociti ( $\times 10^9/L$ )	6.7 (4.7-8.3)	7.9 (6.3-9.9)	0.001
Neutrofili ( $\times 10^9/L$ )	4.0 (2.63-5.33)	5.3 (4.1-7.2)	<0.001
Limfociti ( $\times 10^9/L$ )	1.66 (1.15-2.22)	1.6 (1.27-2.2)	0.691
NLR	2.39 (1.4-4.08)	3.1 (1.96-4.54)	0.018
CRP (mg/L)	1.6 (0.45-4.0)	9.45 (2.8-24.5)	<0.001
Otečeni zglobovi	0	4 (1-11)	<0.001
Bolni zglobovi	0 (0-1)	8 (3-18)	<0.001
DAS28CRP	2.0 (1.39-2.315)	4.655 (3.405-6.005)	<0.001
HAQ	$n = 14$ 0.44 (0-1.25)	$n = 82$ 1.625 (1.125-1.88)	0.001

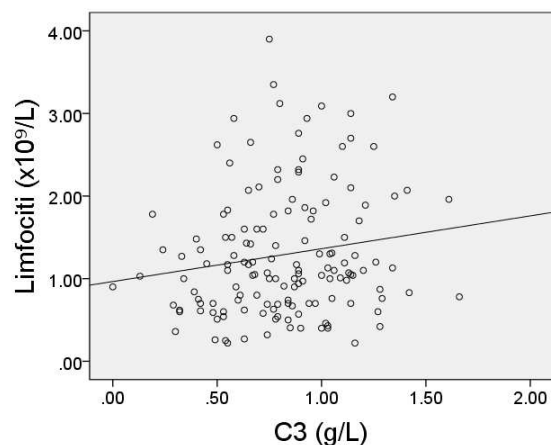
Rezultati su izraženi kao medijani i interkvartilni rasponi, *p* za Mann Whitneyev test

Korelacije ispitivanih parametara u bolesnika sa SLE prikazane su u tablici 5.

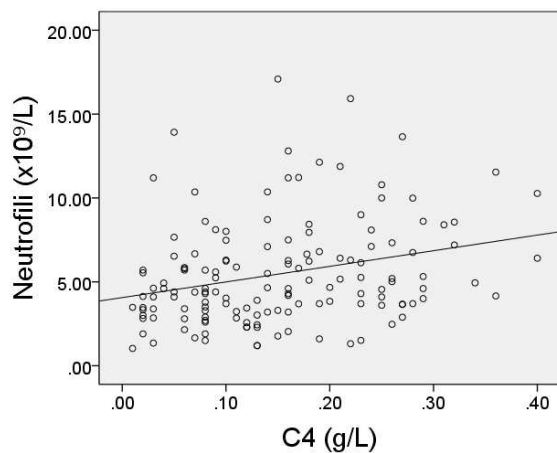
Plazmatske koncentracije C3 i C4 komponenti komplementa u međusobnoj su pozitivnoj korelaciji, a također i s koncentracijom hemoglobina. Brojevi neutrofila i limfocita u perifernoj krvi u pozitivnoj su korelaciji s plazmatskim koncentracijama C3 i C4 (slike 7-10).



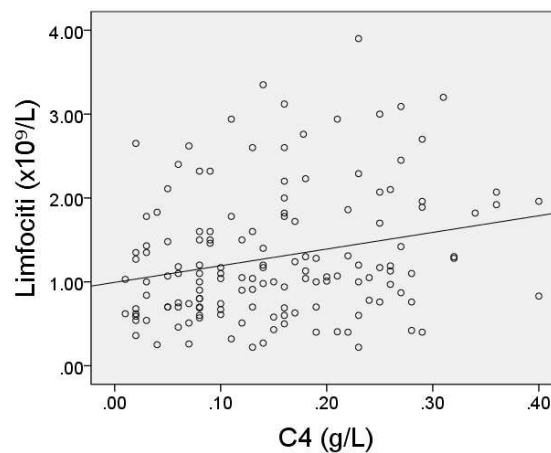
Slika 7. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije C3 komponente komplementa u bolesnika sa SLE.  
 $y = 2.144x + 3.73, p = 0.011$



Slika 8. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije C3 komponente komplementa u bolesnika sa SLE.  
 $y = 0.397x + 0.965, p = 0.058$

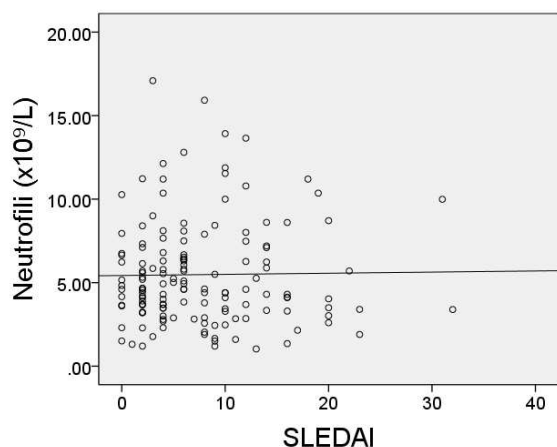


Slika 9. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije C4 komponente komplementa u bolesnika sa SLE.  
 $y = 9.311x + 4.065$

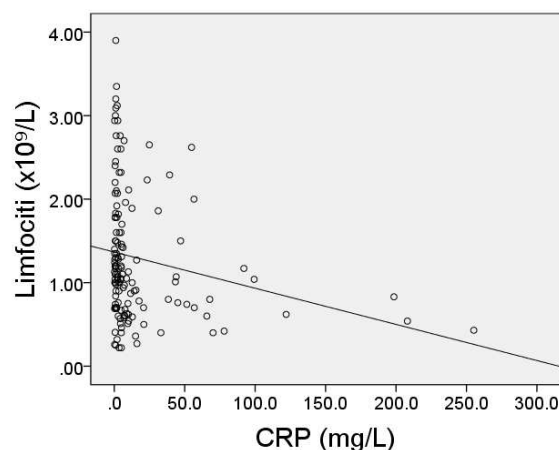


Slika 10. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije C4 komponente komplementa u bolesnika sa SLE.  
 $y = 1.986x + 0.994, p = 0.004$

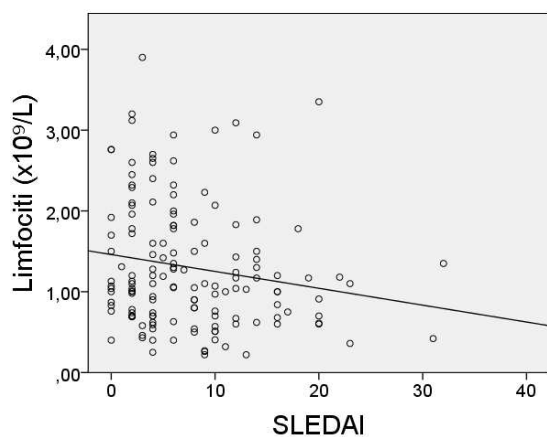
Nije ustanovljena korelacija broja neutrofila u perifernoj krvi s plazmatskom koncentracijom CRP-a i SLEDAI indeksom (slika 11). Regresijski pravac odnosa broja neutrofila i SLEDAI indeksa je gotovo paralelan s apscisom što jasno pokazuje da se broj neutrofila u perifernoj krvi minimalno mijenja s porastom SLEDAI. Broj limfocita u negativnoj je korelaciji s plazmatskom koncentracijom CRP-a (slika 12) i SLEDAI indeksom (slika 13).



Slika 11. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila u perifernoj krvi i iznosa SLEDAI indeksa u bolesnika sa SLE.  
 $y = 0.007x + 5.429, p = 0.868$

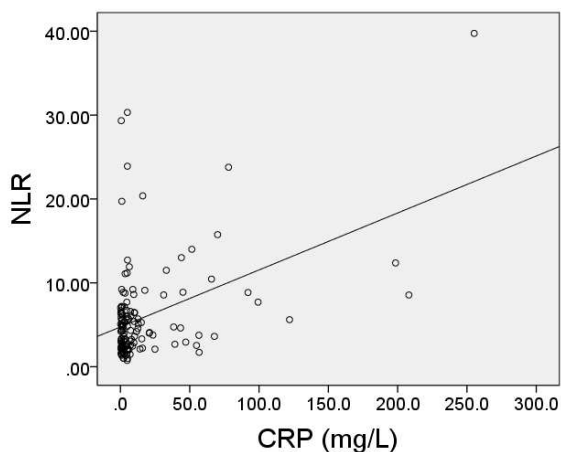


Slika 12. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i plazmatske koncentracije CRP-a u bolesnika sa SLE.  
 $y = -0.004x + 1.366, p = 0.014$

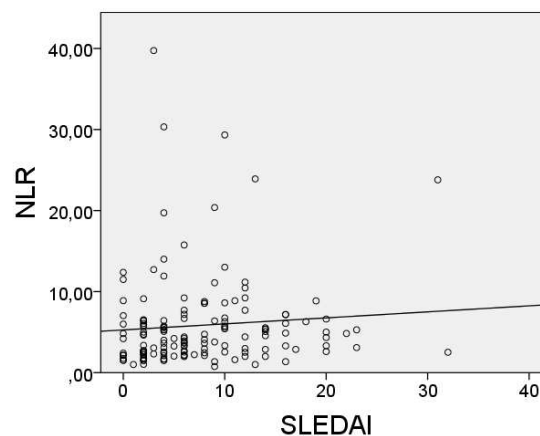


Slika 13. Regresijska analiza odnosa broja limfocita u perifernoj krvi i iznosa SLEDAI indeksa u bolesnika sa SLE.  
 $y = -0.021x + 1.46, p = 0.038$

Omjer neutrofila i limfocita u pozitivnoj je korelaciji s brojem neutrofila, plazmatskom koncentracijom CRP-a (slika 14) i SLEDAI indeksom (slika 15), u negativnoj korelaciji s brojem limfocita te granično značajno negativno korelira s koncentracijom hemoglobina ( $p=0.051$ ).



Slika 14. Regresijska analiza odnosa NLR i plazmatske koncentracije CRP-a u bolesnika sa SLE.  $y = 0.068x + 4.748, p < 0.001$



Slika 15. Regresijska analiza odnosa NLR i iznosa SLEDAI indeksa u bolesnika sa SLE.  $y = 0.074x + 5.271, p = 0.322$

Koncentracija hemoglobina je u pozitivnoj korelaciji s brojem neutrofila i limfocita u perifernoj krvi. Koncentracija hemoglobina je u negativnoj korelaciji s plazmatskom koncentracijom CRP-a i SLEDAI indeksom.

Korelacije plazmatskih koncentracija C3 i C4 komponenti komplementa sa SLEDAI indeksom nisu računate jer su ti parametri sadržani u izračunu SLEDAI indeksa.

Usporedba ispitivanih parametara u bolesnika sa SLE u remisiji i s aktivnom bolesti prikazana je u tablici 6. U bolesnika s aktivnom bolesti plazmatske koncentracije C3 i C4 komponenti komplementa i hemoglobina su manje. Brojevi leukocita, neutrofila i limfocita u perifernoj krvi te plazmatska koncentracija CRP-a podjednaki su u obje skupine ispitanika. Omjer neutrofila i limfocita je veći u bolesnika s aktivnom bolesti s graničnom vrijednosti statističke značajnosti ( $p=0.062$ ).

Tablica 5. Korelacije ispitivanih parametara u bolesnika sa SLE (n=146).

		C3	C4	NLR	Hemoglobin	CRP	SLEDAI
C3	<i>r</i>	1	<b>0.751</b>	0.013	<b>0.294</b>	-0.007	
	<i>p</i>		<0.001	0.872	<0.001	0.934	
C4	<i>r</i>	<b>0.751</b>	1	0.015	<b>0.256</b>	-0.082	
	<i>p</i>	<0.001		0.862	0.002	0.337	
Neutrofili	<i>r</i>	<b>0.244</b>	<b>0.302</b>	<b>0.523</b>	<b>0.166</b>	0.043	-0.011
	<i>p</i>	0.003	<0.001	<0.001	0.045	0.612	0.891
Limfociti	<i>r</i>	<b>0.163</b>	<b>0.236</b>	<b>-0.633</b>	<b>0.272</b>	<b>-0.287</b>	<b>-0.173</b>
	<i>p</i>	0.050	0.004	<0.001	0.001	0.001	0.037
NLR	<i>r</i>	0.013	0.015	1	<b>-0.162</b>	<b>0.233</b>	<b>0.165</b>
	<i>p</i>	0.872	0.862		0.051	0.005	0.046
Hemoglobin	<i>r</i>	<b>0.294</b>	<b>0.256</b>	-0.162	1	<b>-0.380</b>	<b>-0.264</b>
	<i>p</i>	<0.001	0.002	0.051		<0.001	0.001

Tablica 6. Usporedba ispitivanih parametara u bolesnika sa SLE u remisiji i s aktivnom bolesti.

Ispitivani parametri	SLEDAI ≤ 3 ( <i>n</i> = 42)	SLEDAI > 3 ( <i>n</i> = 104)	<i>p</i> vrijednost
C3 (g/L)	1.03 (0.82-1.13)	0.73 (0.54-0.92)	<0.001
C4 (g/L)	0.18 (0.13-0.26)	0.11 (0.06-0.19)	<0.001
Leukociti (x10 <sup>9</sup> /L)	6.8 (5.3-8.8)	6.8 (4.6-10.1)	0.844
Neutrofili (x10 <sup>9</sup> /L)	4.63 (3.37-6.34)	4.62 (3.31-7.41)	0.7
Limfociti (x10 <sup>9</sup> /L)	1.12 (0.78-2.08)	1.09 (0.67-1.6)	0.166
NLR	2.88 (2.15-6.15)	4.65 (2.75-7.06)	0.062
Hemoglobin (g/L)	127 (107-138)	116 (100-131)	0.049
CRP (mg/L)	3.1 (1.125-11.2)	4.5 (1.175-12.675)	0.534
SLEDAI	2 (0-2)	9 (6-14)	<0.001

Rezultati su izraženi kao medijani i interkvartilni rasponi, *p* za Mann Whitneyev test

## 8. Rasprava

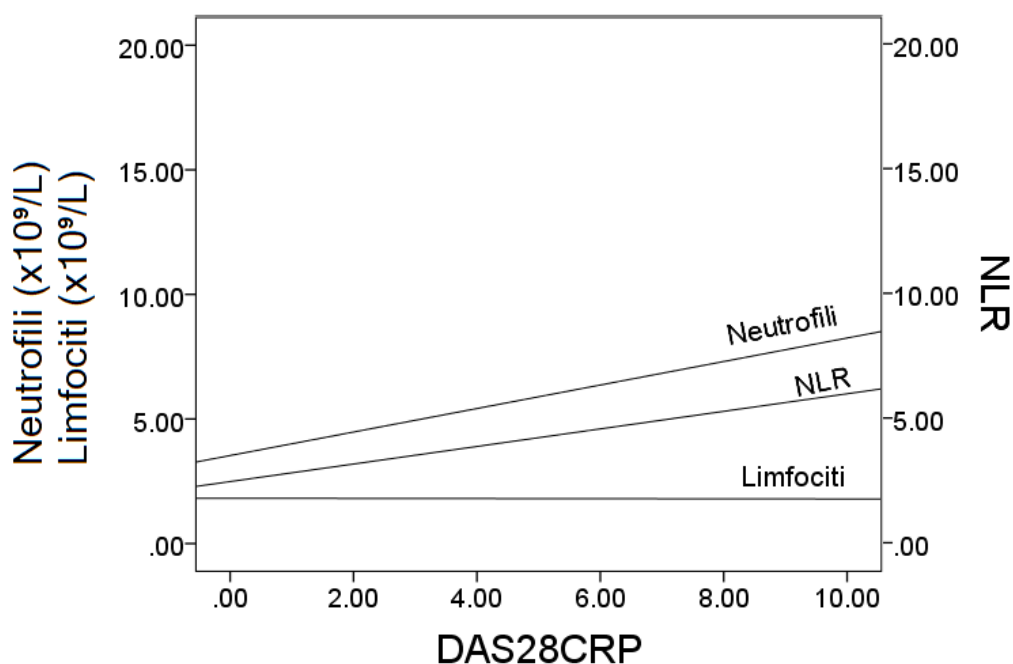
Omjer neutrofila i limfocita (NLR) pokazao se kao biomarker sustavne upale u brojnim patološkim stanjima (zloćudnim tumorima, kardiovaskularnim bolestima, pretilosti, autoimunim bolestima) (57–59,66). Međutim, nije jasan mehanizam promjene broja neutrofila i limfocita u tim stanjima i posljedične promjene omjera neutrofila i limfocita.

Prema našim rezultatima u reumatoidnom artritisu je NLR u skladu s drugim upalnim pokazateljima bolesti (plazmatskom koncentracijom CRP-a, brojem otečenih i bolnih zglobova, iznosom DAS28CRP-a) i viši je u bolesnika s aktivnom bolesti, što je u skladu s većinom dosadašnjih istraživanja (67,68,74).

U sustavnom eritemskom lupusu nalazi o NLR su kontradiktorni. Prema nekim istraživanjima NLR je u skladu s drugim upalnim pokazateljima bolesti (plazmatskom koncentracijom CRP-a, C3 i C4 te iznosom SLEDAI) (69,71,73), dok prema drugima nema razlike u NLR između bolesnika u remisiji i bolesnika s aktivnom bolesti (70). Prema našim rezultatima NLR je u SLE povezan s nekim upalnim pokazateljima bolesti (koncentracijom hemoglobina, plazmatskom koncentracijom CRP-a i SLEDAI), dok povezanost s drugim pokazateljima nije nađena (C3 i C4).

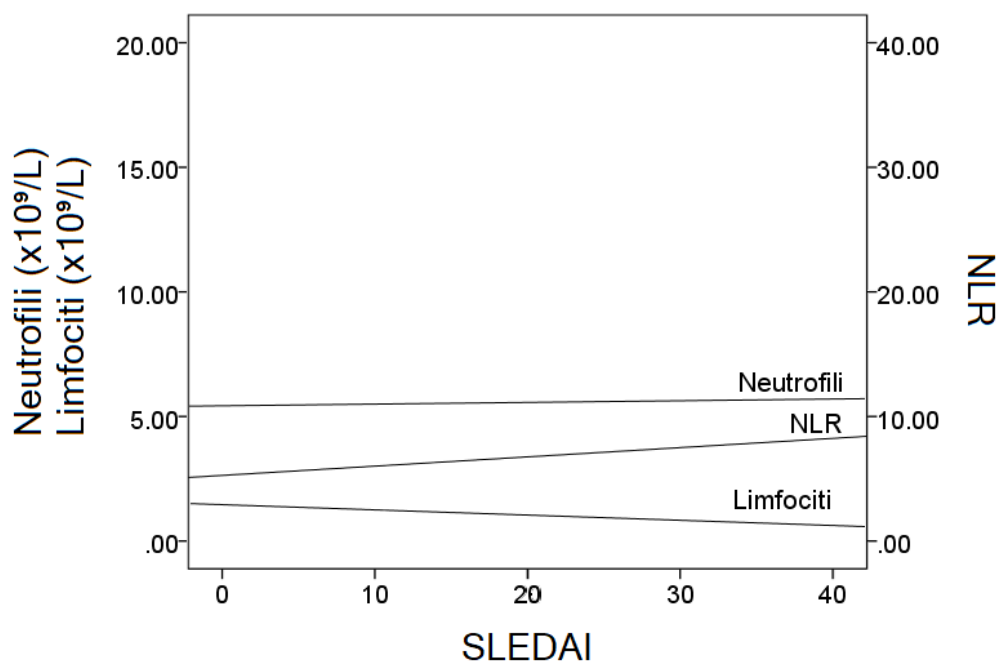
Koliko nam je poznato nisu istraživane promjene broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi bolesnika s RA i njihov utjecaj na NLR. Tek jedno istraživanje navodi veći broj neutrofila uz nepromijenjen broj limfocita u bolesnika s aktivnim RA (68). Stoga smo odlučili detaljnije proučiti promjene broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi bolesnika s RA i njihov utjecaj na NLR. Prema našim rezultatima broj neutrofila u perifernoj krvi bolesnika s RA raste s porastom DAS28CRP-a, iako u većine bolesnika ostaje unutar referentnih vrijednosti ( $2.06-6.49 \times 10^9/L$ ) (medijan u bolesnika u remisiji 4.0 (2.63-5.33), a u bolesnika s aktivnom bolesti 5.3 (4.1-7.2)). S druge strane, broj limfocita je podjednak između obje skupine bolesnika (medijan u bolesnika u remisiji 1.66 (1.15-2.22), a u bolesnika s aktivnom bolesti 1.6 (1.27-2.2)), u većine je unutar referentnih vrijednosti, te se ne mijenja s porastom aktivnosti bolesti. Nadalje, plazmatska koncentracija CRP-a kao pokazatelja upale u korelaciji je s brojem neutrofila, dok ne korelira s brojem limfocita. Ovi rezultati ukazuju da je NLR dobar pokazatelj upalne aktivnosti u bolesnika s RA i postaje veći u aktivnoj bolesti zbog porasta broja neutrofila uz beznačajne promjene broja limfocita u perifernoj krvi što jasno prikazuje regresijska analiza na slici 16.





Slika 16. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi te NLR-a s DAS28CRP-om u bolesnika s RA. Za detaljniji prikaz regresijske analize vidi slike 1, 2 i 4.

U bolesnika sa SLE prema našim rezultatima broj neutrofila u perifernoj krvi ne mijenja se s porastom SLEDAI, podjednak je u obje skupine bolesnika i u većine je unutar referentnih vrijednosti (medijan u bolesnika u remisiji 4.63 (3.37-6.34), u bolesnika s aktivnom bolesti 4.62 (3.31-7.41)). Broj limfocita u bolesnika sa SLE negativno korelira sa SLEDAI, iako nije pokazana statistički značajna razlika između bolesnika u remisiji i s aktivnom bolesti ( $p=0.166$ ). U većine bolesnika broj limfocita je ispod donje granice referentnih vrijednosti ( $1.19-3.35 \times 10^9/L$ ) (medijan u bolesnika u remisiji 1.12 (0.78-2.08), a u bolesnika s aktivnom bolesti 1.09 (0.67-1.6)). Nadalje, plazmatska koncentracija CRP-a kao pokazatelja upalne aktivnosti negativno korelira s brojem limfocita, dok nije pokazana povezanost s brojem neutrofila. Prema tome NLR može poslužiti kao pokazatelj upalne aktivnosti u bolesnika sa SLE. U aktivnoj bolesti postaje veći zbog pada broja limfocita uz beznačajne promjene broja neutrofila u perifernoj krvi što jasno prikazuje regresijska analiza na slici 17.



Slika 17. Regresijska analiza odnosa broja neutrofila i limfocita u perifernoj krvi te NLR-a sa SLEDAI u bolesnika sa SLE. Za detaljniji prikaz regresijske analize vidi slike 11, 13 i 15.

Zaključno, naši rezultati su potvrdili da je NLR dobar pokazatelj upalne aktivnosti u RA i SLE, ali da se radi o dva različita mehanizma njegove promjene. U bolesnika s aktivnim RA povećava se zbog porasta broja neutrofila uz beznačajne promjene broja limfocita, dok se u bolesnika s aktivnim SLE povećava zbog smanjenja broja limfocita uz beznačajne promjene broja neutrofila u perifernoj krvi.

Omjer neutrofila i limfocita možda bi se mogao koristiti kao orijentacijski pokazatelj upalne aktivnosti u zamjenu za rutinsku primjenu CRP-a što bi bilo pogodno u laboratorijima kojima određivanje CRP-a nije dostupno. Za takvu primjenu NLR-a potrebno je istražiti dijagnostičke pokazatelje NLR-a u odnosu na plazmatsku koncentraciju CRP-a.

## 9. Zaključci

1. Potvrdili smo da je omjer neutrofila i limfocita (NLR) dobar pokazatelj sustavne upalne aktivnosti.
2. Mehanizam promjene NLR razlikuje se u različitim patološkim procesima prema patofiziološkim mehanizmima u podlozi pojačane upalne aktivnosti.
3. U reumatoidnom artritisu NLR povećava se s povećanjem aktivnosti bolesti i sustavne upale i to zbog povećanja broja neutrofila uz beznačajne promjene broja limfocita u perifernoj krvi.
4. U sustavnom eritemskom lupusu NLR povećava se s povećanjem aktivnosti bolesti i sustavne upale i to zbog smanjenja broja limfocita uz beznačajne promjene broja neutrofila u perifernoj krvi.

## 10. Zahvale

*Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Jadranki Morović Vergles na iskazanoj pomoći, savjetima i vodstvu u izradi diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se i djelatnicima Zavoda za kliničku imunologiju, alergologiju i reumatologiju, KB Dubrava te Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju, KBC Zagreb koji su mi pomogli u prikupljanju podataka.*

*Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj i uvijek spremnoj potpori tijekom cijelog studija.*

## 11. Literatura

1. Perkovic D, Kaliterna DM, Krstulovic DM, Bozic I, Boric K, Radic M. [Clinical approach to a patient with rheumatoid arthritis]. *Reumatizam*. 2014;61(2):24–30.
2. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016;388:2023–38.
3. Alamanos Y, Voulgari P V., Drosos AA. Incidence and Prevalence of Rheumatoid Arthritis, Based on the 1987 American College of Rheumatology Criteria: A Systematic Review. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;36(3):182–8.
4. Jiang X, Frisell T, Askling J, Karlson EW, Klareskog L, Alfredsson L, et al. To What Extent Is the Familial Risk of Rheumatoid Arthritis Explained by Established Rheumatoid Arthritis Risk Factors? *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(2):352–62.
5. Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, Holligan S, Carthy D, Farhan A, et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol*. 1993;32(10):903–7.
6. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S265–72.
7. Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A, et al. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: A meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):70–81.
8. Anic B, Mayer M. [Pathogenesis of rheumatoid arthritis]. *Reumatizam*. 2014;61(2):19–23.
9. Klareskog L, Malmström V, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol*. 2011;23(2):92–8.
10. Scher JU, Littman DR, Abramson SB. Review: Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(1):35–45.
11. McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 2011;365(23):2205–19.
12. Ebringer A, Wilson C. HLA molecules, bacteria and autoimmunity. *J Med Microbiol*. 2000;49(4):305–11.
13. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac S, Reddy SM, et al. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(1):128–39.
14. Honda K, Littman DR. The Microbiome in Infectious Disease and Inflammation. *Annu Rev Immunol*. 2012;30(1):759–95.
15. Willemze A, Trouw LA, Toes REM, Huizinga TWJ. The influence of ACPA status and characteristics on the course of RA. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(3):144–52.
16. Alam J, Jantan I, Bukhari SNA. Rheumatoid arthritis: Recent advances on its etiology, role of cytokines and pharmacotherapy. *Biomed Pharmacother*. 2017;
17. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2009;373(9664):659–72.
18. Roelleveld DM, Koenders MI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. *Cytokine*. 2015;74(1):101–7.
19. Furst DE, Emery P. Rheumatoid arthritis pathophysiology: Update on emerging cytokine and cytokine-associated cell targets. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2014;53(9):1560–9.
20. McInnes IB, Schett G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2017;389(10086):2328–37.
21. Brzustewicz E, Bryl E. The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis - Practical and potential application of cytokines as biomarkers and targets of personalized therapy. *Cytokine*. 2015;76(2):527–36.
22. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis

- classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569–81.
23. Syversen SW, Gaarder PI, Goll GL, Ødegård S, Haavardsholm EA, Mowinckel P, et al. High anti-cyclic citrullinated peptide levels and an algorithm of four variables predict radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis: results from a 10-year longitudinal study. *Ann Rheum Dis.* 2008 Feb;67(2):212–7.
  24. Hermann K-G a, Backhaus M, Schneider U, Labs K, Loreck D, Zühlsdorf S, et al. Rheumatoid arthritis of the shoulder joint: comparison of conventional radiography, ultrasound, and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum.* 2003;48(12):3338–49.
  25. Potočki K, Bajramović D. [Application of radiological imaging in rheumatoid arthritis]. *Reumatizam.* 2014;61(2):37–42.
  26. Perić P. [The role of diagnostic ultrasound of hands and feet in the patients with rheumatoid arthritis]. *Reumatizam.* 2014;61(2):43–54.
  27. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JWJ, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(4):631–7.
  28. Babić-Naglić D. [The treatment of rheumatoid arthritis]. *Reumatizam.* 2014;61(2):55–9.
  29. Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, Van ZD, Kerstens PJ, Hazes JM, et al. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2005;52(11):3381–90.
  30. Pukšić S, Morović-Vergles J. [Comorbidities in patients with rheumatoid arthritis]. *Reumatizam.* 2014;61(2):31–6.
  31. Yurkovich M, Vostretsova K, Chen W, Aviña-Zubieta JA. Overall and Cause-Specific Mortality in Patients With Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2014;66(4):608–16.
  32. Schur PH, Hahn BH, Editor S, Pisetsky DS, Editor D, Greene JM. Epidemiology and pathogenesis of systemic lupus erythematosus [Internet]. Up-to-Date. 2017 [cited 2018 May 3]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-pathogenesis-of-systemic-lupus-erythematosus>
  33. Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, Van Vollenhoven R, et al. Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2:1–21.
  34. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 2014;384(9957):1878–88.
  35. Fernandez D, Kirou KA. What causes lupus flares? *Curr Rheumatol Rep.* 2016;18(3).
  36. Gladman D. Overview of the clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in adults [Internet]. UpToDate. 2018 [cited 2018 May 3]. Available from: [http://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-clinical-manifestations-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?source=search\\_result&search=systemic+lupus+erythematosus&selectedTitle=1~150](http://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-clinical-manifestations-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?source=search_result&search=systemic+lupus+erythematosus&selectedTitle=1~150)
  37. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: A comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore).* 2003;82(5):299–308.
  38. Foering K, Chang AY, Piette EW, Cucchiara A, Okawa J, Werth VP. Characterization of clinical photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(2):205–13.
  39. Lehmann P, Homey B. Clinic and pathophysiology of photosensitivity in lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2009;8(6):456–61.
  40. Buyon JP, Kim MY, Guerra MM, Laskin CA, Petri M, Lockshin MD, et al. Predictors of pregnancy outcomes in patients with lupus: A cohort study. *Ann Intern Med.* 2015 Aug 4;163(3):153–63.
  41. Wallace DJ. Overview of the management and prognosis of systemic lupus erythematosus in adults [Internet]. UpToDate. 2018 [cited 2018 May 3]. p. 1–21. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-management-and-prognosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=overview of the management and prognosis of>

lupus&source=search\_result&selectedTitle=1~150&usage\_type=default&display\_

42. Silpa-archa S, Lee J, Foster C. Ocular manifestations in systemic lupus erythematosus. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(1):135–41.
43. Wallace DJ, MD. Diagnosis and differential diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults - UpToDate [Internet]. Up-to-Date. 2017 [cited 2018 May 3]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-and-differential-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=diagnosis and differential diagnosis of lupus&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/diagnosis-and-differential-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=diagnosis+and+differential+diagnosis+of+lupus&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1)
44. Tektonidou MG, Laskari K, Panagiotakos DB, Moutsopoulos HM. Risk factors for thrombosis and primary thrombosis prevention in patients with systemic lupus erythematosus with or without antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2009;61(1):29–36.
45. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1725.
46. Aggarwal R, Ringold S, Khanna D, Neogi T, Johnson SR, Miller A, et al. Distinctions Between Diagnostic and Classification Criteria? *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2015;67(7):891–7.
47. Padjen I, Cerovec M, Mayer M, Anić B. Sistemski eritemski lupus: opis i kvantifikacija fenotipa bolesti. *Reumatizam*. 2017;64(1):1–9.
48. Gladman DD, Ibanñez D, Ruiz I, Urowitz MB. Recommendations for frequency of visits to monitor systemic lupus erythematosus in asymptomatic patients: Data from an observational cohort study. *J Rheumatol*. 2013;40(5):630–3.
49. Belmont HM. Treatment of systemic lupus erythematosus - 2013 update. *Bull Hosp Jt Dis*. 2013;71(3):208–13.
50. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: A systematic review. Vol. 69, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2010. p. 20–8.
51. Ding HJ, Gordon C. New biologic therapy for systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Pharmacol*. 2013;13(3):405–12.
52. Van Vollenhoven RF, Mosca M, Bertsias G, Isenberg D, Kuhn A, Lerstrøm K, et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: Recommendations from an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(6):958–67.
53. Borchers AT, Keen CL, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Surviving the butterfly and the wolf: Mortality trends in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2004;3(6):423–53.
54. Jeltsch-David H, Muller S. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: Pathogenesis and biomarkers. *Nat Rev Neurol*. 2014;10(10):579–96.
55. Schmeding A, Schneider M. Fatigue, health-related quality of life and other patient-reported outcomes in systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27(3):363–75.
56. Bobb GA, Fairchild EJ. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as indicator of ozone exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1967 Nov;11(3):558–64.
57. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(6):dju124.
58. Wang X, Zhang G, Jiang X, Zhu H, Lu Z, Xu L. Neutrophil to lymphocyte ratio in relation to risk of all-cause mortality and cardiovascular events among patients undergoing angiography or cardiac revascularization: A meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis*. 2014;234:206–13.
59. Furuncuoğlu Y, Tulgar S, Dogan AN, Cakar S, Tulgar YK, Cakiroglu B. How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: A retrospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20:1300–6.
60. Markar SR, Karthikesalingam A, Falzon A, Kan Y. The diagnostic value of neutrophil: Lymphocyte ratio in adults with suspected acute appendicitis. *Acta Chir Belg*. 2010;110(5):543–7.
61. Beecher SM, Hogan J, O’Leary DP, McLaughlin R. An Appraisal of Inflammatory Markers in

- Distinguishing Acute Uncomplicated and Complicated Appendicitis. *Dig Surg*. 2016;33(3):177–81.
62. Yilmaz H, Celik HT, Namuslu M, Inan O, Onaran Y, Karakurt F, et al. Benefits of the neutrophil-to-lymphocyte ratio for the prediction of gestational diabetes mellitus in pregnant women. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2014;122(1):39–43.
  63. Kirbas A, Ersoy AO, Daglar K, Dikici T, Biberoglu E, Kirbas O, et al. Prediction of preeclampsia by first trimester combined test and simple complete blood count parameters. *J Clin Diagnostic Res*. 2015;9(11):QC20-QC23.
  64. Cakmak HA, Dincgez Cakmak B, Abide Yayla C, Inci Coskun E, Erturk M, Keles I. Assessment of relationships between novel inflammatory markers and presence and severity of preeclampsia: Epicardial fat thickness, pentraxin-3, and neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Hypertens Pregnancy*. 2017;36(3):233–9.
  65. Mazza MG, Lucchi S, Tringali AGM, Rossetti A, Botti ER, Clerici M. Neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio in mood disorders: A meta-analysis. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2018;84:229–36.
  66. Hao X, Li D, Wu D, Zhang N. The Relationship between Hematological Indices and Autoimmune Rheumatic Diseases (ARDs), a Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1).
  67. Chandrashekar S, Mukhtar Ahmad M, Renuka P, Anupama KR, Renuka K. Characterization of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a measure of inflammation in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017;20(10):1457–67.
  68. Zengin O, Onder ME, Kalem A, Bilici M, Turkbeyler IH, Ozturk ZA, et al. New inflammatory markers in early rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol*. 2016;07:7.
  69. Yang Z, Zhang Z, Lin F, Ren Y, Liu D, Zhong R, et al. Comparisons of neutrophil-, monocyte-, eosinophil-, and basophil- lymphocyte ratios among various systemic autoimmune rheumatic diseases. *APMIS*. 2017;125(10):863–71.
  70. Yolbas S, Yildirim A, Gozel N, Uz B, Koca SS. Hematological Indices May Be Useful in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus and in Determining Disease Activity in Behçet's Disease. *Med Princ Pract*. 2016;25(6):510–6.
  71. Wu Y, Chen Y, Yang X, Chen L, Yang Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) were associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Int Immunopharmacol*. 2016;36:94–9.
  72. Li L, Xia Y, Chen C, Cheng P, Peng C. Neutrophil-lymphocyte ratio in systemic lupus erythematosus disease: A retrospective study. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(7):11026–31.
  73. Qin B, Ma N, Tang Q, Wei T, Yang M, Fu H, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and platelet to lymphocyte ratio (PLR) were useful markers in assessment of inflammatory response and disease activity in SLE patients. *Mod Rheumatol*. 2016;26(3):372–6.
  74. Tekeoğlu İ, Gürol G, Harman H, Karakeçe E, Çiftçi İH. Overlooked hematological markers of disease activity in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2016;19(11):1078–82.



## 12. Životopis

### OSOBNİ PODACI

Ime i prezime Antica Pasarić  
Adresa Voćarska cesta 24, 10000 Zagreb, Hrvatska  
Kontakt tel: 0959029699, e-mail: [antica.pasarić@gmail.com](mailto:antica.pasarić@gmail.com)  
Datum i mjesto rođenja 8. srpnja 1993., Zagreb

### OBRAZOVANJE

9/2000 – 6/2001 Osnovna škola Lovre pl. Matačića, Zagreb  
9/2001 – 6/2008 Osnovna škola Lučko, Zagreb  
9/2008 – 6/2012 Peta gimnazija, prirodoslovno-matematička, Zagreb  
7/2012 – danas Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
Tijekom studija dvije godine sam obavljala dužnost demonstratorice na Katedri na histologiju i embriologiju, dvije godine na Katedri za patofiziologiju i godinu dana iz predmeta Klinička propedeutika. Kao demonstratorica pomagala sam mlađim kolegama studentima u usvajanju novih znanja i vještina.

### OSOBNİ VJEŠTINE

Materinski jezik Hrvatski  
Ostali jezici Engleski  
Njemački – certifikat Deutsches Sprachdiplom Stufe II (DSD II), C1  
Talijanski  
Španjolski  
  
RAČUNALNE VJEŠTINE Microsoft Word, Microsoft PowerPoint, Microsoft Excel, Microsoft Access, SPSS

### RAZMJENE

8/2017. Profesionalna studentska razmjena kroz Međunarodnu federaciju udruga studenata medicine (engl. International Federation of Medical Students' Associations, IFMSA) u Palermu, Italija. Razmjena je bila u vidu stručne prakse na odjelu opće interne medicine u bolnici A.R.N.A.S. Civico u Palermu, u trajanju od 4 tjedna.

### PROJEKTI

2010./2011. Međunarodna razmjena učenika i rad na projektu "Umwelt Baut Brücken – Junge Europäer im Dialog" u organizaciji Deutsche Bundesstiftung Umwelt (Njemačka savezna zaklada za okoliš)  
2016./2017. Sudjelovanje u projektu „Pogled u sebe“. Projekt je organiziran od strane udruge studenata medicine CroMSIC Zagreb u suradnji s Domom zdravlja

Zapad. Cilj projekta je podizanje svijesti o važnosti mentalnog zdravlja među adolescentima kroz ciklus radionica u 3. razredima srednje škole. Sudjelovanje u projektu „Reproduktivno zdravlje i AIDS“ u organizaciji udruge studenata medicine CroMSIC

TEČAJEVI    Tečaj osnovnog održavanja života (engl. Basic Life Support, BLS), tečaj neposrednog održavanja života (engl. Immediate Life Support, ILS) u organizaciji Hrvatskog društva za reanimatologiju

PRIZNANJA I    Dekanova nagrada za izvrstan uspjeh na prvoj godini studija, ak. g.  
NAGRADE    2012./2013.